



Федеральное государственное бюджетное
учреждение науки Государственный научный центр
Российской Федерации

**ИНСТИТУТ
МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОБЛЕМ**

Российской академии наук
(ГНЦ РФ-ИМБП РАН)
ИНН/КПП 7714038980/771401001
ОГРН 1027739333710

Хорошевское шоссе, д. 76А, г. Москва, 123007
телефон: (499) 195-15-73, факс: (499) 195-22-53
e-mail: doc@imbp.ru http://www.imbp.ru

УТВЕРЖДАЮ



Директор ГНЦ РФ ИМБП РАН,
академик РАН Орлов О.И.

2019 г.

12.11.2019 № 109/ 11-15/2393

На № _____ от _____

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕГО УЧРЕЖДЕНИЯ

о научно-практической ценности диссертации

Джалиловой Джулии Шавкатовны «Морфологические и молекулярно-биологические особенности системной воспалительной реакции у животных с разной устойчивостью к гипоксии», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Актуальность темы выполненной работы

Устойчивость к гипоксии имеет индивидуальную вариабельность и она, очевидно, является одним из основных механизмов, определяющих развитие и тяжесть течения различных заболеваний, таких как инфекционно-воспалительные, сердечно-сосудистые и опухолевые. В современной литературе отсутствуют данные о морфологических, молекулярно-биологических особенностях воспалительных процессов в зависимости от устойчивости к гипоксии. В трудах отечественных и зарубежных ученых показано, что индивидуальная чувствительность к недостатку кислорода во многом зависит от генотипа, что подтверждается данными о существовании многочисленных полиморфизмов генов, регулирующих продукцию индуцируемого гипоксией фактора *HIF-1α* (*Hypoxia-Inducible Factor-1α*), фактора роста сосудистого эндотелия *VEGF* (*Vascular Endothelial Growth Factor*), супероксиддисмутазы *SOD2* (*Superoxide Dismutase 2*) и других. Кроме того, чувствительность к гипоксии зависит от пола, возраста, наличия сопутствующих заболеваний и приема лекарственных средств, а также имеет сезонную и суточную ритмичность, однако зависимость устойчивости к недостатку кислорода от 4-суточных инфрадианных биоритмов остается неизученной.

Определение устойчивости к гипоксии в барокамере проводится при воздействии сублетальной гипоксической нагрузки, которая, вероятно, индуцирует провоспалительные реакции, однако этот вопрос остается неизученным. В связи с этим, сроки проведения экспериментальных исследований на животных с разной устойчивостью к гипоксии в литературе не обоснованы.

Изучение морфологических и молекулярно-биологических механизмов воспалительного процесса в зависимости от устойчивости к гипоксии необходимо для разработки прогностических критериев течения инфекционно-воспалительных и опухолевых заболеваний, а также профессионального отбора летчиков сверхзвуковой авиации и космонавтов. В связи с этим, актуальность работы Джалиловой Д.Ш. не вызывает сомнений.

Новизна исследования и полученных результатов, выводов, рекомендаций, сформулированных в диссертации

Работа Д.Ш. Джалиловой посвящена важным методическим аспектам – обоснованию сроков проведения экспериментов после гипоксической нагрузки, влиянию инфрадианных биоритмов на устойчивость к гипоксии и основной проблеме – выявлению морфологических, молекулярно-биологических и иммунологических особенностей системной воспалительной реакции у животных с разной устойчивостью к гипоксии.

Автором установлена зависимость устойчивости к гипоксии от инфрадианного биоритма содержания кортикостерона – в акрофазу его 4-суточного биоритма время жизни животных на критической «высоте» больше, чем в батифазу.

В ранние сроки после гипоксического воздействия только у низкоустойчивых к гипоксии крыс выявлены провоспалительные реакции, характеризующиеся увеличением содержания в сыворотке крови маркера окислительного стресса 8-изопростана и TGF- β , а через месяц после гипоксической нагрузки отмечается повышенная экспрессия генов *Hif-1 α* и *Vegf* в печени и функциональная активация иммунной системы.

Показано, что при системной воспалительной реакции, вызванной ЛПС, высокоустойчивые и низкоустойчивые к гипоксии животные характеризуются разнонаправленными провоспалительными, противовоспалительными и иммунными реакциями. У низкоустойчивых к гипоксии крыс по сравнению с высокоустойчивыми более выражены провоспалительные реакции, у них повышается экспрессия *Hif-1 α* и *Nf- κ b*, больше площадь некрозов в печени и количество нейтрофилов в легких, а также

повышается содержание в сыворотке крови провоспалительных молекул. В тоже время противовоспалительные реакции у низкоустойчивых к гипоксии крыс реализуются за счет повышения содержания кортикостерона в сыворотке крови, а у высокоустойчивых – снижения продукции цитокинов IL-10 и TGF- β .

В работе впервые охарактеризованы особенности иммунных реакций в ответ на введение ЛПС в зависимости от устойчивости к гипоксии: у низкоустойчивых к гипоксии крыс наблюдается смещение баланса в сторону гуморальных, а у высокоустойчивых – клеточных реакций.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Диссертационное исследование основано на изучении достаточного по объему экспериментального материала – количество животных составило 200. Системная воспалительная реакция смоделирована путем внутрибрюшинного введения липополисахарида, эта модель широко используется исследователями, она является высоко воспроизводимой и детально охарактеризована в литературе. Достоинством работы являются проведенные исследования по взаимосвязи устойчивости к гипоксии и инфранианного биоритма кортикостерона, которые позволили автору обосновать сроки проведения экспериментов после определения устойчивости к недостатку кислорода.

Для решения поставленных задач автором использован комплекс современных методов исследования: морфологических, морфометрических, молекулярных, биохимических, иммунологических с последующей статистической обработкой количественных данных. Количество животных в экспериментальных группах является достаточным для получения достоверных данных. Сформулированные автором выводы достоверны, логически следуют из результатов, полученных в ходе исследования, и отражают их в полном объеме. Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций сомнений не вызывает.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Полученные в исследовании теоретические данные расширяют представления о молекулярно-биологических механизмах развития системной воспалительной реакции у крыс с разной устойчивостью к гипоксии. В отличие от высокоустойчивых, у низкоустойчивых к гипоксии животных системная воспалительная реакция более выражена, выше экспрессия фактора, индуцируемого гипоксией *Hif-1 α* и

контролирующего развитие воспаления гена *Nf-κb*. В ответ на введение ЛПС у высокоустойчивых к гипоксии крыс наблюдается смещение баланса иммунных реакций в сторону клеточных, в то время как у низкоустойчивых – гуморальных.

Важным методическим аспектом работы является то, что авторы установили зависимость устойчивости к гипоксии от 4-суточного инфрадианного биоритма концентрации кортикостерона в сыворотке крови, которая должна учитываться при изучении особенностей реакции организма на недостаток кислорода. Полученные данные о молекулярно-биологических и морфологических особенностях реакции на острое гипоксическое воздействие обосновывают сроки проведения экспериментальных исследований на животных после определения устойчивости к гипоксии.

Данные о структурных и молекулярно-биологических различиях в норме и при индуцированной ЛПС системной воспалительной реакции у высокоустойчивых и низкоустойчивых к гипоксии крыс послужат основой для разработки новых персонализированных подходов к профилактике и лечению инфекционных и воспалительных заболеваний человека.

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов работы

Полученные автором результаты по взаимосвязи устойчивости к гипоксии с инфрадианным биоритмом кортикостерона могут быть использованы при доклинической оценке эффективности антигипоксантов и антиоксидантов, а также в авиационной и космической медицине, так как они позволяют проводить более точное определение устойчивости к гипоксии с учетом инфрадианных биоритмов, прогнозировать течение системных воспалительных реакций у организмов, отличающихся по устойчивости к гипоксии.

Результаты исследования используются в курсе лекций на кафедре клеточной биологии и гистологии биологического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Личное участие автора

Автор самостоятельно проанализировала литературу по теме исследования, провела эксперименты по моделированию системной воспалительной реакции, индуцированной введением липополисахарида, морфологическое, морфометрическое, биохимическое исследования, иммуноферментный анализ, ПЦР в режиме реального времени, проточную

цитофлуориметрию, а также самостоятельно выполнила анализ, статистическую обработку полученных результатов и подготовила к печати публикации.

Структура диссертации традиционная. Работа написана хорошим литературным языком, текст изложен на 295 страницах машинописного текста. Диссертация иллюстрирована 58 графиками и микрофотографиями отличного качества, включает 65 таблиц. Список литературы состоит из 592 российских и зарубежных источников. Такой большой объем литературных источников обусловлен необходимостью анализа данных о методах определения устойчивости к гипоксии, молекулярно-биологических механизмах взаимосвязи гипоксии и воспаления. В обзоре помимо базовых работ по гипоксии, представлены, в основном, работы последних 5 лет, в том числе 2019 г.

Выводы диссертации соответствуют полученным результатам и задачам исследования. Автореферат и публикации в полной мере отражают основные положения диссертации.

По материалам диссертации опубликовано 13 научных работ, из них 5 статей в журналах, входящих в Перечень РФ рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук и ученой степени доктора наук. Результаты доложены на 8 Всероссийских и международных конференциях.

Принципиальных замечаний по представленной работе нет.

В качестве дискуссии хотелось бы, чтобы автор ответил на следующие вопросы:

1. Почему крысы линии Спрейг-Доули сочтены более чувствительными к гипоксии, если время их жизни на «высоте» составляло для высокоустойчивых 20 мин, а у крыс линии Вистар – 4 мин?

2. Почему именно печень была выбрана в качестве органа-мишени? Печень состоит из клеток разных типов. Есть ли возможность дифференциально проанализировать транскрипционную активность в этих популяциях? Одинаково ли реагируют на гипоксию клетки, относящиеся к паренхиме органов-мишеней и, например, сосудистой сети?

3. Описание в тексте дублирует информацию, содержащуюся на некоторых рисунках (например, рис. 1, 2 в автореферате).

Заключение

Диссертационная работа Джалиловой Д.Ш. «Морфологические и молекулярно-биологические особенности системной воспалительной реакции у животных с разной

устойчивостью к гипоксии», выполненная под руководством д.м.н. профессора Макаровой О.В. и д.б.н. Диатроптова М.Е., является научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная научная задача: установлены морфологические и молекулярно-биологические особенности индуцированной введением липополисахарида системной воспалительной реакции у половозрелых самцов крыс с разной устойчивостью к гипоксии.

Результаты диссертационного исследования имеют большое научно-практическое значение для клеточной биологии, цитологии, гистологии, иммунологии и патофизиологии.

По актуальности, новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов работа Джалиловой Д.Ш. соответствует требованиям п.9-14 Постановления Правительства РФ «О порядке присуждения ученых степеней» от 24.09.2013 г. №842, в редакции от 28.08.2017 г. №1024, 01.10.2018 №1168, предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание ученой степени кандидата наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология, а автор заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Отзыв обсужден и одобрен на заседании межлабораторного семинара ГНЦ РФ – ИМБП РАН (протокол №6 от 7 ноября 2019 года).

Ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной физиологии ГНЦ РФ – ИМБП РАН, доктор биологических наук по специальностям 03.03.01 - «Физиология», 03.03.04 - Клеточная биология, цитология, гистология

Е.Р.Андреева

123007, г.Москва, Хорошевское ш., 76а
Тел.: +7(499)195-2301
doc@imbp.ru, <http://www.imbp.ru>



Подпись д.б.н. Андреевой Е.Р. заверяю

Ученый секретарь ГНЦ РФ ИМБП РАН, д.б.н

М.А.Левинских